



IGF1による再生歯胚形態制御メカニズムの解析

著者	大柳 俊仁
号	46
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	歯博第777号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00126725

氏 名（本籍）：大 柳 俊 仁（福島県）

学 位 の 種 類：博 士 （ 歯 学 ）

学 位 記 番 号：歯 博 第 7 7 7 号

学位授与年月日：2017 年 3 月 24 日

学位授与の要件：学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻：東北大学大学院歯学研究科（博士課程）歯科学専攻

学位論文題目：IGF1 による再生歯胚形態制御メカニズムの解析

論文審査委員：（主査）教授 笹 野 泰 之

教授 江 草

宏

教授 熊 本 裕 行

論文内容要旨

マウス歯胚由来の細胞を用いた器官原基法により、マウス口腔内で萌出し機能する再生歯の作製が報告されている。しかし、それらの再生歯のサイズは天然歯と比較して小さく、正常な咬合を営むうえで、天然歯に近い再生歯形態の獲得を目指した形態制御技術の開発が求められる。一方、insulin-like growth factor 1 (IGF1) の作用により器官原基法で作製したマウス再生歯のサイズが増大することが報告されている。これにより、IGF1 が再生歯のサイズの制御において有用な因子であることが示唆されるが、そのメカニズムの詳細は不明である。そこで本研究では、IGF1 の再生歯胚における形態制御作用のメカニズムを解析した。

胎齢 14.5 日マウス下顎臼歯歯胚から歯胚上皮および間葉細胞を単離し、IGF1 を添加したコラーゲンゲル中に再生歯胚を作製した。再生歯胚を器官培養し、歯冠サイズを測定した。培養した再生歯胚の切片を作製して H-E 染色および免疫染色を行い、組織学的解析を行った。次に、単離したマウス歯胚上皮および間葉細胞に IGF1 を添加して培養し、BrdU アッセイにより細胞増殖を、蛍光免疫染色およびリアルタイム PCR により細胞分化を解析した。また、培養した再生歯胚を用いてホールマウント in situ ハイブリダイゼーションを行い、エナメルノットマーカーの発現を解析した。

本研究で作製したマウス再生歯胚は、IGF1 によりサイズが増大し、組織学的に天然歯胚と同様の構造を示した。細胞増殖解析より、マウス歯胚由来上皮および間葉培養細胞の増殖が IGF1 により亢進した。細胞分化解析より、マウス歯胚由来上皮培養細胞におけるエナメル芽細胞マーカー ameloblastin の発現が IGF1 により亢進した。マウス歯胚由来間葉培養細胞に対し、象牙芽細胞分化を誘導する bone morphogenetic protein 2 (BMP2) と同時に IGF1 を作用させた結果、象牙芽細胞マーカー dentin matrix acidic phosphoprotein 1 (DMP1), dentin sialophosphoprotein (DSPP) および microtubule-associated protein 1b (MAP1B) の発現がさらに亢進した。また、マウス再生歯胚において、IGF1 に

よりエナメルノットマーカーである fibroblast growth factor 4 (FGF4) の発現箇所数が増加した。

以上より、IGF1 はマウス歯胚由来上皮および間葉細胞の増殖と分化を亢進することで、マウス再生歯胚のサイズを増大することが示された。さらに、IGF1 によるエナメルノットマーカー発現の亢進が、マウス再生歯の咬頭数増加に関わることが示唆された。

審査結果要旨

マウス歯胚由来の細胞を用いた器官原基法により、マウス口腔内で萌出し機能する再生歯の作製が報告されている。しかし、それらの再生歯のサイズは天然歯と比較して小さく、正常な咬合を営むうえで、天然歯に近い再生歯形態の獲得を目指した形態制御技術の開発が求められる。一方、insulin-like growth factor 1 (IGF1) の作用により器官原基法で作製したマウス再生歯のサイズが増大することが報告されている。これにより、IGF1 が再生歯のサイズの制御において有用な因子であることが示唆されるが、そのメカニズムの詳細は不明である。本研究では、IGF1 の再生歯胚における形態制御作用のメカニズムを解析することを目的とした。

胎齢 14.5 日マウス下顎臼歯歯胚から歯胚上皮および間葉細胞を単離し、IGF1 を添加したコラーゲンゲル中に再生歯胚を作製した。再生歯胚を器官培養し、歯冠サイズを測定した。培養した再生歯胚の切片を作製して H-E 染色および免疫染色を行い、組織学的解析を行った。単離したマウス歯胚上皮および間葉細胞に IGF1 を添加して培養し、BrdU アッセイにより細胞増殖を、蛍光免疫染色およびリアルタイム PCR により細胞分化を解析した。また、培養した再生歯胚を用いてホールマウント in situ ハイブリダイゼーションを行い、エナメルノットマーカーの発現を解析した。

作製したマウス再生歯胚は、IGF1 によりサイズが増大し、組織学的に天然歯胚と同様の構造を示した。細胞増殖解析より、マウス歯胚由来上皮および間葉培養細胞の増殖が IGF1 により亢進した。細胞分化解析より、マウス歯胚由来上皮培養細胞におけるエナメル芽細胞マーカー ameloblastin の発現が IGF1 により亢進した。マウス歯胚由来間葉培養細胞に対し、象牙芽細胞分化を誘導する bone morphogenetic protein 2 (BMP2) と同時に IGF1 を作用させた結果、象牙芽細胞マーカー dentin matrix acidic phosphoprotein 1 (DMP1), dentin sialophosphoprotein (DSPP) および microtubule-associated protein 1b (MAP1B) の発現がさらに亢進した。また、マウス再生歯胚において、IGF1 によりエナメルノットマーカーである fibroblast growth factor 4 (FGF4) の発現箇所数が増加した。

以上より、IGF1 はマウス歯胚由来上皮および間葉細胞の増殖と分化を亢進することで、マウス再生歯胚のサイズを増大することが示された。さらに、IGF1 によるエナメルノットマーカー発現の亢進が、マウス再生歯の咬頭数増加に関わることが示唆された。本研究は再生歯学および臨床歯学の分野に大きく貢献することが期待され、博士（歯学）の学位論文として相応しいと判断する。